

Granulocyte 特異抗原と組織適合性に関する研究

Granulocyte 特異抗体の検出とそれらの白血球輸血
および臓器移植におよぼす影響

長谷川 恒彦

札幌医科大学微生物学講座 (主任 林 喬義教授)

札幌医科大学外科学第2講座 (主任 和田寿郎教授*)

Human Granulocyte Specific Antigens and Histocompatibility

The Significance of Granulocytotoxins in Leukocyte
Transfusion and Human Organ Transplantation

Tsunehiko HASEGAWA

Department of Microbiology, Sapporo Medical College

(Chief: Prof. T. Hayashi)

Department of Surgery (Section 2), Sapporo Medical college

(Chief: Prof. J. Wada*)

Summary

Using a microdroplet granulocyte cytotoxicity test, 522 patients were examined for the presence of granulocytotoxins. Numerous antibodies against granulocytes were found in sera from multitransfused patients, patients with kidney disease undergoing hemodialysis, kidney transplant recipients and pregnant women.

Granulocyte cytotoxic activity in sera from these patients appeared to be clearly different from HLA lymphocyte activity.

Further, the specificities of granulocyte agglutinating antibodies, appearing as a result of the granulocyte agglutination test using pure granulocyte suspension, were completely different from that of granulocytotoxins and anti-HLA antibodies. It is likely that granulocyte cytotoxins and granulocyte agglutinins will be useful in transfusion and bone marrow transplantation as a separate tool from the more widely used lymphocyte cytotoxicity reaction.

With the use of granulocyte cytotoxicity tests, 172 cadaveric kidney transplant recipients were also tested for the presence of granulocytotoxins before transplantation. A higher proportion of failure (75%) was noted among patients with granulocytotoxins than among those without granulocytotoxins (57%) ($P < 0.05$).

After transplantation, all 19 patients who had rejected their transplants had granulocytotoxins, whereas none of the 11 successful transplant patients had granulocytotoxins ($P < 0.025$).

These results suggest that the granulocyte antigens identified by granulocytotoxin may act as histocompatibility antigens in human transplantation.

An attempt has been made to analyse the specificities of granulocyte cytotoxins. Fourteen granulocyte specificities have been identified by Mickey's Boolean regression programs. They have been assigned tentatively to three separate but linked loci. The fit to the Hardy-Weinberg equilibrium was satisfactory. From family studies, the specificities were clearly dominant inherited characteristics. By absorption and cross-correlation tests, these specificities were also proven to be distinct from HLA specificities regardless of whether a genetic linkage with HLA exists has been established.

(Received July 4, 1977 and accepted August 22, 1977)

* 現在 東京女子医科大学第1外科主任教授
東京女子医科大学附属日本心臓血圧研究所外科部長

緒 言

組織適合性抗原としての HLA 系は過去 6 回の国際組織適合性会議^{1)~6)}により非常によく整理確立され、日本においても HLA 系に関する研究が盛んに行われている^{7,8)}。

HLA 系は臓器移植の分野、特に腎移植の臨床に広く応用されている。最近の腎移植の予後と HLA 適合性との相関についてみると、HLA 系が完全に適合した同胞間の腎移植の 1 年生存率は 90% を越えもっとも成績が良く、1 つの haplotype が異なる両親子供間の腎移植ではその 1 年生存率が約 70%、屍体腎移植の 1 年生存率は約 50% となっている。また、1 つの haplotype が異なる同胞間の腎移植の成績は両親子供間のそれとほぼ同じであり、2 つの haplotype が異なる同胞間のそれは屍体腎移植の成績とほとんど変わらず、このことは HLA 系がヒトにおける主要組織適合性抗原であることをもっとも良く証明している^{9,10)}。

しかしながら、屍体腎移植においては、同胞間移植においてみられた様な顕著な HLA 抗原の重要性が未だ証明されていない^{9,11,12)}。すなわち、HLA 抗原が完全に適合した屍体腎移植においても、かなりの数の移植腎が拒否反応によって失われており、また逆に、HLA 抗原不適合な組合せで行われた屍体腎移植がかならずしも不成功に終るとは限らないのが現状である。また、最近、HLA identical sibling 間で行われた腎移植が急性拒否反応によって不成功に終わった症例が報告されるに到り^{13~15)}、HLA 抗原以外の重要な移植抗原の存在が強く示唆されている。

そこで、新しい組織適合性抗原を検索するために、ヒト白血球中の granulocyte を純粋に分離し、これを用いて microdroplet granulocyte cytotoxicity テスト法を開発し、まず、頻回の輸血を受けた患者、妊婦および屍体腎移植患者を中心に、granulocyte に対する抗体すなわち、granulocytotoxin の存在の有無を検索した。次いで granulocytotoxin と屍体腎移植の予後との関連性について研究を行うとともに、granulocytotoxin の特異性を分類することによって、血清学的に granulocyte 特異抗原の分類を試みた。本論文においては、これらの granulocyte 特異抗体および特異抗原の臓器移植における意義並びに白血球輸注時における granulocyte 特異抗原適合性の問題について検討を行った。

実験材料および実験方法

1. 患者血清*

頻回の輸血を受けた白血病患者 116 名、再生不良性貧血患者 29 名、妊婦 151 名、屍体腎移植を受けた患者 226 名およびその他の患者 112 名より 1,000 種類余りの血清を本研究の対象とし、granulocytotoxin および lymphocytotoxin の存在の有無を検査した。Granulocytotoxin と屍体腎移植の予後との関連性について検索を行うために、屍体腎移植後少なくとも 1 年以上拒否反応の所見を呈さず臨床的にも経過良好なものを成功例とし、1 年以内に拒否反応により移植腎を失ったものを不成功例とした。

さらに、granulocytotoxin 陽性を示した 290 種類の血清を選択し、血清学的に granulocytotoxin の抗体特異性の分類を行うための材料とした。これら全ての血清は使用直前まで -80°C フリーザー中に保存し、使用直前に融解して使用した。

2. Granulocyte およびリンパ球パネルの作製

血縁関係のない 90~154 名の異った健康人より 10 ml の末梢血を採血し、Ficoll-Conray 法¹⁶⁾により granulocyte およびリンパ球を分離精製した。各血清を granulocyte およびリンパ球パネルに反応させ、15% 以上のパネル細胞に反応したものを陽性、15% 以下のものを陰性とした。この際 granulocyte に対する反応とリンパ球に対する反応を明確に区別するために granulocyte は 95% 以上純度の高いものを用いた。

一方、家系調査のため 27 家系の両親 54 名、子供 77 名、祖母 1 名の計 132 名から、同様に granulocyte およびリンパ球を分離し、granulocyte 特異抗原の遺伝学的検討を行った。

3. Cross absorption テスト

Granulocyte およびリンパ球の両方に反応する血清 769.7 C を 1:4 まで 2 倍稀釈した後、25 名の異った健康人から分離した赤血球 18×10^6 コ、血小板 10×10^8 コ、granulocyte およびリンパ球 18×10^6 コによって吸収操作を行った。まず、0.2 ml の血清に各細胞を加えた後、 37°C 、30 分間放置した。遠心後、各血清を再回収し、同一健康人から分離した granulocyte およびリンパ球に反応させた。

4. 検査方法

a) Microdroplet granulocyte cytotoxicity テスト⁵⁰⁾

Granulocytotoxin の検出法として用いた。

* 本研究に用いたこれら種々の患者血清は著者がカルフォルニア大学ロスアンジェルス Paul I. Terasaki 教授の下で移植免疫の研究に従事していた際に、米国内の多くの施設から Terasaki 研究室へ送られてきたものであり、白血病ならびに再生不良性貧血患者血清は米国 National Cancer Institute の Dr. R. G. Graw から送られて来たものを使用した。腎移植患者血清はロスアンジェルス市内の 12 の腎移植センターから Terasaki 研究室に送られて来たものを使用した。

b) Standard lymphocyte cytotoxicity テスト¹⁷⁻¹⁹⁾

Lymphocytotoxin の検出に用いた。すなわち、0.001 ml の抗血清に 0.001 ml のリンパ球浮遊液 ($1 \sim 1.5 \times 10^6/\text{ml}$) を加え、室温にて 30 分間放置した後、補体として新鮮家兎血清 0.005 ml を加えさらに 60 分間室温に放置した。その後、0.003 ml のエオジン液を加え、3 分後に 0.008 ml のフォルマリン液を加え反応を終結させた。各反応は倒立位相差顕微鏡下に判定した。

c) Microgranulocyte agglutination テスト

純粋に分離した granulocyte を 0.5% Na₂EDTA (disodium ethylenediaminetetraacetic acid) 添加マッコイ培養液に浮遊し、細胞数を $5 \times 10^6/\text{ml}$ に調整した。マイクロ

テストプレートの各小穴にあらかじめ 0.001 ml ずつ分配してある血清に 0.001 ml の Na₂EDTA 添加 granulocyte 浮遊液を加え 90 分間室温に放置した。培養中プレートを水平回転盤上にのせ連続的に 20 r.p.m の速度で回転を与えた。各反応は暗視野位相差顕微鏡下に判定した。また lymphocyte agglutination テストも同様の方法で行ったが、Na₂EDTA は添加しなかった。

4. Granulocytotoxin の抗体特異性分類法

各血清の granulocyte およびリンパ球パネルに対する反応結果はパンチカードに記録し、コンピューターを用いて分析した。すなわち、各血清中の特異性決定は Mickey's Boolean regression program²⁰⁻²²⁾ を用いて行った。

表—1 種々の患者血清中における Granulocytotoxin および Lymphocytotoxin の出現頻度

| 患 者 | Cytotoxins* | | | | 患 者 総 数 |
|--------|-------------|----------|----------|-----------|---------|
| | G +/L + | G +/L - | G -/L + | G -/L - | |
| 頻回輸血患者 | 26 (18%) | 17 (12%) | 28 (19%) | 74 (51%) | 145 |
| 人工透析患者 | 6 (4%) | 45 (26%) | 6 (4%) | 115 (67%) | 172 |
| 腎移植患者 | 12 (22%) | 7 (13%) | 10 (19%) | 25 (46%) | 54 |
| 妊産婦 | 23 (15%) | 13 (9%) | 40 (27%) | 75 (55%) | 151 |
| 計 | 67 (13%) | 82 (16%) | 84 (16%) | 289 (55%) | 522 |

* G: Granulocytotoxin L: Lymphocytotoxin

各患者血清を granulocyte パネル (60 名) およびリンパ球パネル (120) に反応させ、15% 以上のパネルに反応したものを陽性とした。

表—2 悪性腫瘍患者血清における Granulocytotoxin および Lymphocytotoxin の出現頻度

| 疾 患 | G +/L + | G +/L - | G -/L + | G -/L - | 患 者 総 数 |
|-------------|----------|---------|----------|-----------|---------|
| ALL | 7 (12%) | 7 (12%) | 6 (11%) | 37 (65%) | 57 |
| AML | 9 (20%) | 3 (7%) | 11 (25%) | 21 (48%) | 44 |
| CML | 3 (20%) | 1 (7%) | 5 (33%) | 6 (40%) | 15 |
| A.A. | 7 (24%) | 6 (21%) | 6 (21%) | 10 (34%) | 29 |
| Hodgkin 氏 病 | 0 | 0 | 3 (5%) | 55 (95%) | 58 |
| 悪性リンパ腫 | 0 | 0 | 3 (13%) | 20 (87%) | 23 |
| 悪性腫瘍 | 2 (11%) | 0 | 1 (6%) | 15 (83%) | 18 |
| その他 | 0 | 0 | 2 (15%) | 11 (85%) | 13 |
| 計 | 28 (11%) | 17 (7%) | 37 (14%) | 175 (85%) | 257 |

G: Granulocytotoxin L: Lymphocytotoxin

各患者血清は granulocyte パネル (60 名) およびリンパ球パネル (120 名) に反応させ 15% 以上のパネルに反応したものは陽性とした。

ALL: 急性リンパ球性白血病, AML: 急性骨髄性白血病, CML: 慢性骨髄性白血病, A.A.: 再生不良性貧血

実験結果

1. 輸血患者、妊婦および腎移植患者における
granulocytotoxin の出現頻度

522 名の患者から採取した計 897 血清について granu-
locytotoxin および lymphocytotoxin の存在の有無を検
査した。その結果、表-1 に示すごとく、granulocytotoxin
は lymphocytotoxin から独立して単独で存在することが
証明された。すなわち頻回の輸血を受けた 145 名の患者の
うち 17 名 (12%) に granulocytotoxin のみが証明された。
同様に 172 名の人工透析患者のうち 45 名 (26%) と、54 名
の屍体腎移植を受けた患者のうち、7 名 (13%) に granu-
locototoxin のみが証明された。また、151 名の経産婦中

13 名 (9%) の血清中にも granulocytotoxin が単独で存
在することが確められた。
一方、lymphocytotoxin も granulocytotoxin とは別
に単独で存在した。
また、522 名の患者のうち 67 名 (13%) に granulocto-
toxin と lymphocytotoxin の両方が同時に証明された
が、289 名 (55%) の患者にはいずれのタイプの抗体も検出
されなかった。
頻回の輸血を必要とした白血病患者および再生不良性
貧血の患者では、表-2 に示すごとく、24~45% の患者に
granulocytotoxin が証明されると同時に、23~53% の患
者では lymphocytotoxin が検出された。しかしながら、
悪性リンパ腫、Hodgkin 氏病および悪性腫瘍患者では

表-3 種々の患者血清における Granulocytotoxin, Granulocyte
agglutinin および Lymphocytotoxin の出現頻度

| G. Cyto. | G. Agg. | Ly. Cyto. | 経 産 婦 | 頻回輸血患者 | 人工透析患者 | 計 |
|----------|---------|-----------|----------|----------|----------|----------|
| + | + | + | 2 (5%) | 3 (6%) | 3 (4%) | 8 (5%) |
| + | + | - | 0 | 0 | 3 (4%) | 3 (2%) |
| + | - | + | 2 (5%) | 9 (18%) | 4 (5%) | 15 (9%) |
| - | + | + | 2 (5%) | 2 (4%) | 3 (4%) | 7 (4%) |
| + | - | - | 4 (9%) | 4 (8%) | 7 (9%) | 15 (9%) |
| - | + | - | 1 (1%) | 10 (20%) | 8 (10%) | 19 (11%) |
| - | - | + | 13 (30%) | 2 (4%) | 5 (7%) | 20 (12%) |
| - | - | - | 20 (46%) | 21 (41%) | 44 (57%) | 85 (49%) |
| 患 者 総 数 | | | 44 | 51 | 77 | 172 |

G. Cyto.: Granulocytotoxin G. Agg.: Granulocyte Agglutinin
Ly. Cyto.: Lymphocytotoxin
各血清は granulocyte パネル (60)、リンパ球パネル (60) に反応させ、15% 以上のパネルに反応したも
のを陽性とした。

表-4 各種検査法によって検出される抗体間の相関関係

| 検 査 法* | +/+ | +/- | -/+ | -/- | 総反応数 | χ^2 |
|----------------------|-----|-----|-----|-----|------|----------|
| G. Cyto. 対 G. Aggl. | 14 | 34 | 94 | 215 | 357 | 0.03 |
| G. Cyto. 対 Ly. Cyto. | 21 | 26 | 125 | 175 | 347 | 0.15 |
| G. Cyto. 対 Ly. Agg. | 4 | 43 | 33 | 268 | 348 | 0.06 |
| G. Agg. 対 Ly. Cyto. | 40 | 60 | 83 | 123 | 306 | 0.00 |
| G. Agg. 対 Ly. Agg. | 9 | 83 | 24 | 183 | 299 | 0.21 |
| Ly. Cyto. 対 Ly. Agg. | 42 | 114 | 2 | 226 | 384 | 59.40 |

* G. Cyto.: Granulocytotoxin テスト G. Agg.: Granulocyte Agglutination テスト
Ly. Cyto.: Lymphocytotoxin テスト Ly. Agg.: Lymphocyte Agglutination テスト
21 血清を 17 名から分離した Granulocyte およびリンパ球パネルに反応させ、各検査法によって検査さ
れた抗体間の相関関係を χ^2 値で示した。

granulocytotoxin はほとんど検出されず, lymphocytotoxin も 99 名中わずか 7 名 (7%) に検出されたにすぎなかった。

Granulocyte agglutinin の出現頻度は表-3 に示すごとく, 頻回輸血患者 51 名中 15 名 (29%), 経産婦 44 名中 5 名 (11%) および人工透析患者 77 名中 17 名 (22%) に Granulocyte agglutinin が検出された。これら計 172 名の患者のうち 18 名 (11%) には, granulocyte agglutinin と同時に, granulocyte および lymphocyte cytotoxin が証明されたが, 19 名 (11%) には granulocyte agglutinin のみが証明された。すなわち granulocyte agglutinin は cytotoxin から独立して存在することが証明された。そこで granulocytotoxin と agglutinin の関連性を検索するために 4 種類の検査法すなわち granulocyte cytotoxicity テスト, granulocyte agglutination テスト, lymphocyte cytotoxicity テストおよび lymphocyte agglutination テストにより, 21 種類の血清を同一健康人より採取した granulocyte およびリンパ球パネルに反応させ, 4 種類の

異った検査法によって検出される抗体間の相関関係を χ^2 値で示した。表-4 に示すごとく lymphocyte cytotoxin と lymphocyte agglutinin の間にのみ高い相関がみられたが, 他の granulocytotoxin, granulocyte agglutinin および lymphocytotoxin の間の χ^2 値はいずれも低く 3 種類の抗体の間には相関がみられなかった。

2. 屍体腎移植における granulocytotoxin の意義

a) 移植前に検出された granulocytotoxin と屍体腎移植の予後との関連性について

表-5 に示すごとく屍体腎移植前に granulocytotoxin が証明された 51 名の患者のうち 38 名 (75%) は移植後 1 年以内に拒否反応によって移植腎を失っているのに比して, 移植前に granulocytotoxin が証明されなかった 121 名の患者のうち 52 名 (43%) には 1 年以上拒否反応はみられなかった。($\chi^2=3.96$, $P<0.05$)

また, 急性拒否反応によって移植腎を失った 19 名の患者のうち 7 名 (37%) に granulocytotoxin が証明された。移植後 3 カ月以内に拒否反応によって移植腎を失った 62

表—5 移植前に検出された Granulocytotoxin (G) および Lymphocytotoxin (L) と屍体腎移植患者の予後

| Cytotoxins G L | 成 功 例 > 1 年 | 不 成 功 例 (拒 否 反 応) | | | | 総 計 |
|------------------------|----------------|-------------------|--------|---------|--------|--------|
| | | 急 性 | < 3 カ月 | 3~12 カ月 | 小 計 | |
| + | + | 0 | 3 | 2 | 1 | 6 |
| + | - | 13 | 4 | 16 | 12 | 32 |
| - | + | 3 | 2 | 1 | 0 | 3 |
| - | - | 49 | 10 | 43 | 13 | 66 |
| 症 例 総 数 | 65 | 19 | 62 | 26 | 107 | 172 |

屍体腎移植患者の移植前における血清を Granulocyte (40~70 名) および Lymphocyte (90~100 名) パネルに反応させた。Granulocytotoxin の存在の有無と屍体腎移植の成功例および不成功例の間の χ^2 値は 3.96, $P<0.05$ を示した。

表—6 移植後に検出された Granulocytotoxin (G) および Lymphocytotoxin (L) と屍体腎移植患者の予後

| Cytotoxins G L | 成 功 例 > 1 年 | 不 成 功 例 (拒 否 反 応) | | | | 総 計 |
|------------------------|----------------|-------------------|--------|---------|--------|--------|
| | | 急 性 | < 3 カ月 | 3~12 カ月 | 小 計 | |
| + | + | 0 | 3 | 5 | 4 | 12 |
| + | - | 0 | 0 | 6 | 1 | 7 |
| - | + | 1 | 3 | 5 | 1 | 9 |
| - | - | 10 | 3 | 10 | 2 | 15 |
| 症 例 総 数 | 11 | 9 | 26 | 8 | 43 | 54 |

屍体腎移植患者の移植後における血清を Granulocyte (40~70 名) およびリンパ球 (90~100 名) パネルに反応させた。Granulocytotoxin の存在の有無と屍体腎移植の成功例および不成功例の間の χ^2 値は 5.69, $P<0.025$ を示した。

名中18名(29%)にも granulocytotoxin が検出され、移植後3カ月から1年以内に拒否反応によって移植腎を失った26名の患者のうち13名(50%)にも granulocytotoxin が証明された。更に、移植前に granulocytotoxin と lymphocytotoxin の両方が証明された6名の患者すべてが、1年以内に拒否反応によってその移植腎を失っていた。

b) 移植後に検出された granulocytotoxin と屍体腎移植の予後との関連性について

表-6に示すごとく、屍体腎移植を受けた54名の患者のうち、移植後に granulocytotoxin が証明された19名の患者はすべて1年以内に拒否反応により移植腎を失っているのに反し、屍体腎移植後1年以上経過しても何ら拒否反応の所見を呈さず、経過良好な11名の患者には granulocytotoxin を証明することは出来なかった。(χ²=5.69, P<0.025)

c) 移植前に検出された granulocytotoxin および lymphocytotoxin と屍体腎移植患者の生存曲線

移植前における granulocytotoxin と lymphocytotoxin の存在の有無によって屍体腎移植患者の生存曲線を描いてみると図-1に示すごとく、移植前にいずれのタイプの抗体も証明されなかった患者の1年生存率は60%であった。それに比して、移植前に granulocytotoxin および lymphocytotoxin の両方が証明された患者の1年生存率は極端に悪く約10%前後であった。また、移植前に、granulocytotoxin あるいは lymphocytotoxin のいずれか一方が検出された患者の1年生存率は約50%で、それらの生存曲線は granulocytotoxin 陰性、lymphocytotoxin

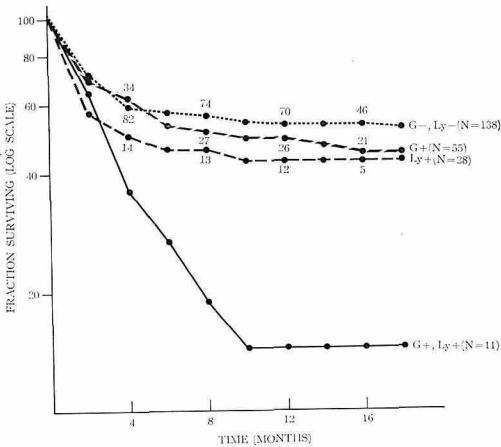


図-1 移植前に検出された Granulocytotoxin および Lymphocytotoxin の存在の有無と屍体腎移植患者生存曲線

陰性群と granulocytotoxin 陽性、lymphocytotoxin 陽性群の中間に位置した。

d) 移植患者の性別と屍体腎移植の予後との関連性

移植患者の性別により granulocytotoxin の出現頻度をみると、表-7に示すごとく、男性108名中29名(27%)に granulocytotoxin が証明されたのに比して、女性では64名中22名(34%)に granulocytotoxin が検出され、女性患者にやや高い頻度で granulocytotoxin が証明された。しかしながら、性別による屍体腎移植の成績には統計学的な有意の差を認めなかった(χ²=3.58)。

表-7 患者性別による Granulocytotoxin の出現頻度と屍体腎移植の予後

| 患者性別 | Granulocytotoxin (+) | | Granulocytotoxin (-) | | 患者総数 |
|------|----------------------|------|----------------------|------|------|
| | 成功例 | 不成功例 | 成功例 | 不成功例 | |
| 男性 | 5 | 24 | 30 | 49 | 108 |
| 女性 | 8 | 14 | 22 | 20 | 64 |
| 計 | 13 | 38 | 52 | 69 | 172 |

3. Granulocyte 特異抗原の分類

a) Granulocyte における HLA 型分類

HLA-A locus 10コ、HLA-B locus 13コの HLA 特異性を有する35種類の異った HLA 標準抗血清を用いて、103名の異った健康人から分離した granulocyte およびリンパ球における HLA 抗原を検索した。その結果、表-8に示すごとく19種類の HLA 標準抗血清は granulocyte パネルにまったく反応しなかった。一方、残りの16種類の HLA 標準抗血清は granulocyte パネルに反応したが、

その反応パターンは、リンパ球パネルに対する反応パターンとはまったく異っていた。すなわちこれらの HLA 標準抗血清中には HLA 特異性を有する抗体の他に granulocytotoxin が同時に存在することが証明された。

b) Cross absorption による granulocyte 特異抗体の証明

HLA 標準抗血清にみられたごとく、ある血清は granulocyte と lymphocyte の両方に反応することが確かめられた。そこで、これらの血清中には、2種類の異

表—8 HLA 標準抗血清中出现する Granulocytotoxin と HLA 特異性との相関関係

| G. Cytotoxin 陰性 | | Granulocytotoxin 陽 性 | | | | | | χ^2 |
|-----------------|-----|----------------------|----------|-------|-------|-------|-------|----------|
| HLA 特異性 | 血清数 | 血清番号 | HLA 特異性 | G+/L+ | G+/L- | G-/L+ | G-/L- | |
| A 1 | 1 | B 2254, 03 | A 1 | 1 | 7 | 24 | 70 | 0.16 |
| A 2 | 1 | B 4343, A 1 | A 2 | 9 | 12 | 24 | 58 | 1.42 |
| A 9 | 2 | B 4284, B 1 | A 2+AW28 | 13 | 12 | 25 | 53 | 3.21 |
| A10 | 2 | A 5217, 02 | A 2+AW28 | 11 | 13 | 27 | 50 | 0.90 |
| A11 | 1 | B 5167, B 0 | A 3 | 6 | 11 | 21 | 64 | 0.82 |
| AW29 | 1 | 40971, B 1 | A 3 | 7 | 10 | 20 | 64 | 2.18 |
| AW31 | 1 | A 8695, B 1 | A 11 | 4 | 9 | 16 | 74 | 0.54 |
| AW32 | 1 | B 5428, A 0 | AW29 | 1 | 4 | 3 | 95 | 0.53 |
| B 5 | 2 | B 4529, B 1 | AW31 | 4 | 20 | 9 | 68 | 0.08 |
| B 7 | 2 | A 6584, B 1 | B 7+BW22 | 11 | 19 | 21 | 52 | 0.62 |
| B 7+BW22 | 1 | A 8886, D 1 | B 12 | 2 | 5 | 16 | 77 | 0.06 |
| B 8 | 2 | 155, F 1 | B 12 | 4 | 15 | 14 | 68 | 0.01 |
| B 13 | 1 | B 5893, B 1 | B 13 | 1 | 23 | 3 | 74 | 0.29 |
| BW10 | 2 | A 5425, C 1 | BW5 | 3 | 4 | 24 | 72 | 0.35 |
| BW14 | 2 | B 1904, 02 | BW5 | 3 | 2 | 24 | 72 | 1.45 |
| BW15 | 2 | A 8015, C 1 | BW27 | 1 | 32 | 6 | 63 | 0.17 |
| BW17 | 2 | | | | | | | |
| BW18 | 2 | | | | | | | |
| BW27 | 1 | | | | | | | |

35 種類の HLA 標準抗血清を 103 名から分離した Granulocyte (G) およびリンパ球パネル (L) に反応させ、Granulocytotoxin と HLA 特異性を比較した。

抗体, すなわち, granulocyte 特異抗体とリンパ球特異抗体が同時に存在するのか, あるいは, 一種類の抗体が granulocyte とリンパ球の両方に反応するいわゆる cross reacting antibody なのかを検索した。その結果, 表-9 に示すごとく, 赤血球はいずれのタイプの抗体をも吸収しなかった。リンパ球および血小板は lymphocytotoxin のみを吸収したが granulocytotoxin を吸収することはなかった。また, granulocyte は granulocytotoxin のみを吸収し lymphocytotoxin には何ら影響を与えなかったことから, この血清中には 2 種類の異った抗体, すなわち granulocyte 特異抗体とリンパ球特異抗体がそれぞれ独立して存在することが証明された。しかしながら, 79518 にみられるごとく, granulocyte が lymphocytotoxin を吸収したり, 79729 にみられるごとく, リンパ球あるいは血小板が granulocytotoxin を吸収する例外的な例がみられるところから共通抗原の存在あるいは cross reacting antigen の存在を完全に否定することは出来なかった。

c) Granulocyte 特異抗体の特異性分類

Granulocytotoxin 陽性を示した 290 種類の血清をその

抗体特異性決定のために選択し, 154 名の血縁関係のない異った健康人より分離した granulocyte パネルに反応させた。各反応結果はすべてパンチカードに記入し, Mickey's Boolean regression program^{20~22)} を用いて各血清の抗体特異性を分析した。これらの抗体特異性によって granulocyte 抗原の分類を行った結果, 3 つの granulocyte 抗原群, すなわち G-A, G-B および G-C 群より成る 14 種類の抗原に分類することが可能であった (表-10)。G-A 群は G-A1, 2, 3, 4 および 5 の 5 コの抗原より成り, G-B 群は G-B20, 21, 22, 23 および 24 の 5 コの抗原, また, G-C 群は G-C40, 41, 42 および 43 の 4 コの抗原から成り立ち, 各抗原の表現型頻度 (phenotype frequency) は表-10 の上段に示した。

i) G-A, G-B および G-C 群における各抗原間の相関係数 (correlation coefficient)

各抗原間の相関係数はすべてコンピューターを用いて算出し表-10 に示した。陰性の相関係数は 2 つの対立遺伝子あるいは抗原が allelic な関係で存在していることを示唆しており, また陽性の相関係数は 2 つの対立遺伝子が同一

表—9 Cross Absorption による Granulocytotoxin 特異性の検討

| 細胞 番 号 | 細胞 の 種類 | % Cytotoxicity | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------|---------------|----------------|-----|-----|-------|-----|-----|-------|-----|-----|-------------|-----|-----|---------|-----|-----|
| | | 未 吸 収 | | | 赤 血 球 | | | 血 小 板 | | | Granulocyte | | | リ ン パ 球 | | |
| | | 1/1 | 1/2 | 1/4 | 1/1 | 1/2 | 1/4 | 1/1 | 1/2 | 1/4 | 1/1 | 1/2 | 1/4 | 1/1 | 1/2 | 1/4 |
| 79549 | G L | + | + | — | + | + | ± | + | + | ± | — | — | — | + | + | ± |
| | | + | + | + | + | + | + | + | + | — | + | + | + | + | ± | — |
| 79559 | G L | + | + | — | + | + | — | + | + | — | — | — | — | + | + | — |
| | | + | + | + | + | + | + | — | — | — | + | + | + | — | — | — |
| 79608 | G L | + | + | — | + | + | — | + | + | — | — | — | — | + | + | — |
| | | + | + | — | + | + | — | — | — | — | + | ± | — | — | — | — |
| 79609 | G L | + | — | — | + | — | — | + | — | — | — | — | — | + | — | — |
| | | + | ± | — | + | ± | ± | — | — | ± | + | — | — | — | ± | — |
| 79685 | G L | + | + | — | + | + | — | + | + | — | — | — | — | + | ± | ± |
| | | + | + | + | + | + | + | — | — | — | + | + | + | + | ± | — |
| 79686 | G L | + | + | — | + | + | — | + | + | — | — | — | — | + | + | — |
| | | + | — | — | + | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | — |
| 79687 | G L | + | + | — | + | ± | — | + | + | — | — | — | — | + | ± | — |
| | | + | + | + | + | + | ± | — | — | — | + | + | ± | ± | — | — |
| 79730 | G L | + | + | — | + | + | — | ± | ± | — | — | — | — | + | ± | ± |
| | | + | + | + | + | + | + | — | — | — | + | + | + | — | — | — |
| 79731 | G L | + | + | — | + | + | — | + | + | — | — | — | — | + | + | ± |
| | | + | + | ± | + | + | — | — | — | — | + | + | — | — | — | — |
| 79885 | G L | + | + | — | + | + | — | + | + | — | — | — | — | + | + | ± |
| | | + | — | — | + | ± | — | — | — | — | + | — | — | — | — | — |
| 79897 | G L | + | + | + | + | + | — | + | + | — | — | — | — | + | + | ± |
| | | + | — | — | + | — | — | — | — | — | + | — | — | — | — | — |
| 80023 | G L | + | + | + | + | + | — | + | + | — | — | — | — | + | + | — |
| | | + | + | + | + | + | + | — | — | — | + | + | + | — | — | — |
| 79473 | G L | + | + | ± | + | + | ± | + | + | — | — | — | — | + | + | — |
| | | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 79619 | G L | + | — | — | + | + | — | + | + | — | — | — | — | + | ± | — |
| | | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 80030 | G L | + | + | — | — | + | — | + | + | — | — | — | — | + | ± | — |
| | | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 79518 | G L | + | + | — | + | — | — | + | ± | — | — | — | — | + | — | — |
| | | + | — | — | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 79729 | G L | + | + | — | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | + | + | ± | + | + | + | + | — | — | + | + | — | — | — | — |

Granulocyte (G) およびリンパ球 (L) に対して強い Cytotoxicity を示す血清 (769.7C) 0.2 ml を 25 名の健康人から分離した 18×10^6 コの赤血球, リンパ球および Granulocyte, 10×10^8 コの血小板によって吸収した. 吸収後の各血清を 1:4 まで 2 倍稀釈し, 同一人から分離した Granulocyte およびリンパ球に反応させた.

⧻: 100~80% 死細胞, ⧻: 80~50% 死細胞, ±: 50~20% 死細胞, —: 20~0% 死細胞.

表—10 G-A, G-B および G-C 群における各抗原間の
相関係数 (r) とそれらの表現型出現頻度

| 表現型頻度 (%) | 39 | 16 | 12 | 12 | 11 | 38 | 19 | 14 | 13 | 9 | 26 | 24 | 20 | 16 | |
|-----------|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--|
| | G-A | | | | | G-B | | | | | G-C | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 40 | 41 | 42 | 43 | |
| 1 | | -0.18 | 0.07 | 0.06 | -0.01 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.12 | 0.33 | -0.07 | -0.05 | 0.05 | 0.16 | |
| 2 | | | -0.09 | -0.14 | -0.08 | -0.14 | -0.07 | -0.16 | -0.04 | -0.11 | -0.15 | -0.03 | 0.12 | 0.06 | |
| 3 | | | | 0.01 | -0.05 | -0.11 | -0.05 | 0.05 | 0.24 | 0.29 | 0.12 | -0.06 | -0.19 | -0.04 | |
| 4 | | | | | 0.03 | 0.08 | 0.15 | -0.02 | 0.06 | 0.18 | 0.03 | 0.24 | -0.01 | 0.08 | |
| 5 | | | | | | 0.04 | 0.15 | 0.15 | 0.01 | 0.16 | 0.16 | 0.03 | -0.06 | 0.17 | |
| 20 | | | | | | | -0.09 | -0.18 | -0.18 | -0.05 | 0.02 | -0.08 | -0.04 | 0.02 | |
| 21 | | | | | | | | -0.01 | -0.01 | 0.17 | 0.05 | 0.11 | -0.04 | 0.13 | |
| 22 | | | | | | | | | 0.18 | 0.10 | -0.01 | 0.09 | -0.01 | 0.17 | |
| 23 | | | | | | | | | | 0.15 | 0.08 | 0.12 | -0.08 | 0.05 | |
| 24 | | | | | | | | | | | 0.07 | 0.04 | 0.02 | 0.23 | |
| 40 | | | | | | | | | | | | -0.06 | -0.09 | -0.02 | |
| 41 | | | | | | | | | | | | | -0.05 | 0.01 | |
| 42 | | | | | | | | | | | | | | 0.01 | |
| 43 | | | | | | | | | | | | | | | |

染色体上に存在していることを示唆している。G-A, G-B および G-C 群内における各抗原 (対立遺伝子) 間の相関係数は陰性あるいは低値を示すものが多くみられ、それに反して、各抗原群外の抗原間の相関係数は陽性を示すものが多くみられた。しかしながら、いまだ G-A, G-B あるいは G-C 群内における各抗原間でも陽性の相関係数を示すものがみられた。

ii) Hardy-Weinberg の法則への適合度

G-A, G-B および G-C 群における各抗原の対立遺伝子の頻度が Hardy-Weinberg の法則に適合しているかどうかを検索するために、minimum chi-square 法により各対立遺伝子の gene frequency を算出するとともに、各対立遺伝子のヘテロ接合体 (heterozygote) の推定頻度と実測頻度を算出し、各ヘテロ接合体の推定頻度と実測頻度の間の χ^2 値を求めた。これらの χ^2 値の総数および P 値より Hardy-Weinberg の法則への適合度を判定した。表-11 の下段に示したごとく、G-B 群では $\chi^2=13.2$, $P=0.200$ を示し最も良く適合していることを示唆したが、G-A 群では $\chi^2=29.4$, $P=0.001$, G-C 群では $\chi^2=13.0$, $P=0.043$ を示し、G-B 群に比してその適合度は低かった。

iii) G-A, G-B および G-C 群における抗原分布

血縁関係のない異った健康人 149~154 名における granulocyte 特異抗原の分布は図-2 に示すごとくであり、G-A 群では 3 人にいわゆる triplet がみられ、G-B 群では 4 人、G-C 群では 1 人に triplet がみられた。

d) Granulocyte 特異抗原の遺伝形式

Granulocyte 特異抗原の遺伝形式を調べるために 27 家系、すなわち両親 54 名、子供 77 名、祖母 1 名より granulocyte およびリンパ球を分離した。Granulocyte 特異抗原の決定は前述の 14 種類の特異性を有する 290 種類の血清を用いて行った。また、リンパ球の HLA 型分類も同時に行った。表-12 に代表的家系の granulocyte 抗原および HLA 抗原の genotype を示した。Granulocyte 抗原はメンデルの法則に従って遺伝することが明らかである。すなわち、各対立遺伝子は両親から子供へ分離して遺伝し、しかも各対立遺伝子は独立して行動し、子供には種々の対立遺伝子の組合せがみられた。

また、各血清の反応についてみると、両親に陰性で子供に陽性を示した例が 4.2% (45/1082) にみられ、子供に検出出来た抗原で両親に検出出来なかった抗原が 10 コ (表-12 の中に星印で示した) みられた。

表-11 各抗原の対立遺伝子頻度と Hardy-Weinberg の法則に対する適合度の検定

| G-A | | | | G-B | | | | G-C | | | |
|---------------------|---------------|-------|------|---------------------|---------------|-------|------|--------------------|---------------|-------|------|
| 抗 原 特異性 | 対立遺伝 子 頻 度 | 表現型頻度 | | 抗 原 特異性 | 対立遺伝 子 頻 度 | 表現型頻度 | | 抗 原 特異性 | 対立遺伝 子 頻 度 | 表現型頻度 | |
| | | 実測値 | 推定値 | | | 実測値 | 推定値 | | | 実測値 | 推定値 |
| XA | 0.53 | 54 | 43.3 | XB | 0.56 | 51 | 46.0 | XC | 0.59 | 63 | 53.8 |
| 1 | 0.19 | 28 | 37.1 | 20 | 0.21 | 46 | 42.2 | 40 | 0.11 | 17 | 22.8 |
| 2 | 0.09 | 21 | 16.6 | 21 | 0.09 | 14 | 15.2 | 41 | 0.13 | 21 | 26.1 |
| 3 | 0.07 | 4 | 12.7 | 22 | 0.06 | 9 | 10.8 | 42 | 0.09 | 18 | 16.8 |
| 4 | 0.06 | 7 | 9.8 | 23 | 0.06 | 8 | 10.9 | 43 | 0.08 | 9 | 15.5 |
| 5 | 0.05 | 10 | 8.8 | 24 | 0.02 | 1 | 3.7 | 40,41 | | 8 | 4.5 |
| 1,2 | | 4 | 5.5 | 20,21 | | 7 | 5.4 | 40,42 | | 2 | 3.0 |
| 1,3 | | 10 | 4.3 | 20,22 | | 2 | 3.9 | 40,43 | | 5 | 2.8 |
| 1,4 | | 7 | 3.4 | 20,23 | | 2 | 4.0 | 41,42 | | 3 | 3.4 |
| 1,5 | | 4 | 3.1 | 20,24 | | 0 | 1.4 | 41,43 | | 5 | 3.2 |
| 2,3 | | 2 | 2.1 | 21,22 | | 1 | 1.6 | 42,43 | | 3 | 2.1 |
| 2,4 | | 0 | 1.6 | 21,23 | | 2 | 1.6 | | | | |
| 2,5 | | 1 | 1.5 | 21,24 | | 1 | 0.6 | | | | |
| 3,4 | | 0 | 1.3 | 22,23 | | 3 | 1.1 | | | | |
| 3,5 | | 0 | 1.2 | 22,24 | | 1 | 0.4 | | | | |
| 4,5 | | 1 | 0.9 | 23,24 | | 1 | 0.4 | | | | |
| 1.00 153 100.0 | | | | 1.00 149 100.0 | | | | 1.00 154 100.0 | | | |
| $\chi^2=29.4$ df=10 | | | | $\chi^2=13.2$ df=10 | | | | $\chi^2=13.0$ df=6 | | | |
| P=0.001 | | | | P=0.200 | | | | P=0.043 | | | |

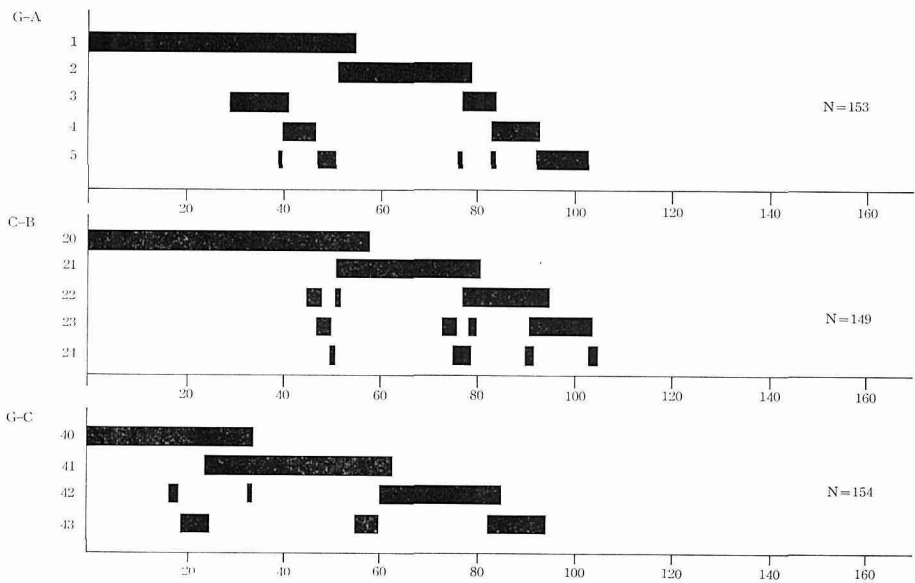


図-2 健康人集団における Granulocyte 特異抗原の分布とそれらの allelic relationship

表—12 各家系における Granulocyte 抗原および HLA 型分類と遺伝形式

| 家 系 | 家 族 構 成 | Granulocyte 抗原型分類 | | HLA 型分類 | |
|-----|---------|-------------------|--------|---------------|--------|
| | | Genotype | 染色体組合せ | Genotype | 染色体組合せ |
| Ha | 父 | 42, 40 /1, 20, 40 | A B | 30, 8 /2, 15 | a b |
| | 母 | 24, 42 /1, 21, 43 | C D | 2, 12 /2, 5 | c d |
| | 子 供 1 | 1, 20, 40/24, 42* | B C | 2, 15 /2, 12 | b c |
| | 子 供 2 | 42, 40 /24*, 42 | A C | 2, 15 /2, 5 | b d |
| | 子 供 3 | 1, 20, 40/24*, 42 | B C | 2, 15 /2, 12 | b c |
| Ki | 父 | 1 /20 | A B | 32 /2, 13 | a b |
| | 母 | 3, 24, 40/3, 20 | C D | 2, 5 /21 | c d |
| | 子 供 1 | 20 /3, 20 | B D | 32 /2, 5 | a c |
| | 子 供 2 | 1 /3, 24, 40 | A C | 2, 13 /2, 5 | b c |
| Do | 父 | 1* /3, 40 | A B | 1, 17 /32, 60 | a b |
| | 母 | 22, 41* / | C D | 10, 14/11, 50 | c d |
| | 子 供 1 | 1 /22, 41 | A C | 1, 17 /10, 14 | a c |
| | 子 供 2 | 1 / | A D | 1, 17 /10, 14 | a c |
| Mo | 父 | 1 /42 | A B | 1, 17 /2, 22 | a b |
| | 母 | 5 /1 | C D | 23, 17/10, 27 | c d |
| | 子 供 1 | 1 /5 | A C | 1, 17 /23, 17 | a c |
| | 子 供 2 | 1 /1 | A D | 1, 17 /23, 17 | a c |
| | 子 供 3 | 42 /1* | B D | 2, 22 /10, 27 | b d |
| Ar | 父 | 1 /1, 43* | A B | 28, 21/11, 5 | a b |
| | 母 | 1, 20 /5, 24 | C D | 2, 17 /29, 12 | c d |
| | 子 供 1 | 1, 43 /1, 20* | B C | 11, 5 /2, 17 | b c |
| | 子 供 2 | 1, 43 /1, 20* | B C | 11, 5 /2, 17 | b c |
| Ba | 父 | 20 /21, 42 | A B | 2, 15 /2, 13 | a b |
| | 母 | 1*, 20 /1, 21, 20 | C D | 2, 12 /23, 12 | c d |
| | 子 供 1 | 21, 42 /1, 21, 20 | B D | 2, 13 /23, 12 | b d |
| | 子 供 2 | 20 /1, 20 | A C | 2, 13 /23, 12 | b d |
| | 子 供 3 | 20 /1, 20 | A C | 2, 15 /23, 12 | a d |

* 印は型分類出来なかった抗原を示す

一方, HLA 型分類より得られた染色体の組合せと, granulocyte 抗原分類より得られた染色体の組合せを表-12に示したが, 明らかな HLA 遺伝子との連関を認めることは出来なかった. しかしながら, 4組の HLA identical sibling 間の各血清反応についてみると, 736回中35回(4.8%)は異った反応を呈した. また, HLA semi-identical sibling 間のそれは1026回中66回(6.4%)であり, 2 haplotype different sibling 間のそれは462回中32回

(6.9%)であった. さらに, 両親の間では856回中88回(10.3%)は異った反応を示しており, HLA 遺伝子との連関を完全に否定することは出来なかった.

考 按

輸血によって起ってくる種々の免疫反応は抗白血球抗体と密接な関連があることが従来より示唆されてきており²³ ²⁴, 最近では輸血による副作用を避ける意味からも目的に

応じた成分輸血が行なわれるようになって来ている²⁵⁻²⁹⁾。特に、血小板減少あるいは顆粒球減少に伴って起る出血や感染の予防の意味から頻回の輸血を必要とする白血病患者や再生不良性貧血患者においては輸血による種々の免疫反応は重大な問題である。Shulman³⁰⁾らは抗血小板抗体による血小板減少症を認めているが、Yankee^{25,26)}, Thorsby²⁷⁾らは白血病患者や再生不良性貧血患者に対して HLA 抗原が適合したドナー血小板輸注を行った結果、抗体産生はみられず、輸注した血小板の機能も、HLA 抗原不適合血小板に比して、生体内でより長期間保たれることを報告している。

また、Lalezari³¹⁻³³⁾らは白血球凝集素が新生児顆粒球減少症と関連があることを報告しており、Boxer³⁴⁾, Cline³⁵⁾らは自己白血球抗体が顆粒球減少症と関連があることを認めている。著者は、白血球型不適合輸血を頻回に受けた白血病患者および再生不良性貧血患者の血清中に granulocytotoxin, granulocyte agglutinin あるいは lymphocytotoxin などの種々の抗白血球抗体が産生されることを報告したが、抗顆粒球抗体特に、granulocyte agglutinin は lymphocytotoxin に比して発熱、悪寒などのいわゆる輸血副作用と密接な関連があることを認めている³¹⁾。最近白血病患者や再生不良性貧血患者にみられる顆粒球減少に対しては感染防止のためから顆粒球輸注が行われているが^{28,29)}、この際には、少なくとも顆粒球輸注前にドナー顆粒球と患者血清の間で交叉試験を行い、granulocytotoxin あるいは granulocyte agglutinin の存在の有無を確かめ、交叉試験陰性のドナー顆粒球を輸注すべきであり、また granulocyte 抗原が適合したドナー顆粒球を輸注することによって、種々の抗白血球抗体の産生を抑制し、輸注された顆粒球の機能もより長期間保たれることが期待される。

現在、腎移植前には通常、HLA 抗原適合性を検査すると同時に、交叉試験により lymphocytotoxin の存在の有無を検査し、交叉試験陰性のドナーレシピエント間で腎移植が行われている^{9,36-39)}。しかしながら、交叉試験陰性で lymphocytotoxin の存在が移植前に証明されないにもかかわらず超急性あるいは急性拒否反応が起る例がしばしばみられる^{40,41)}。そこで著者は、移植前における granulocytotoxin の存在の有無と屍体腎移植の予後との関連性について検索を行った。移植前に granulocytotoxin が証明された患者の多くは1年以内に拒否反応によってその移植腎を失っており、さらに、移植腎が拒否された後には常に granulocytotoxin が証明された。このことは granulocytotoxin が屍体腎移植の成績を左右する重要な因子であり、granulocyte 抗原もヒトにおける重要な組織適合性

抗原であることを強く示唆している。Opelz ら^{42,43)}は、屍体腎移植予定患者を移植前の lymphocytotoxin の産生能により high responder 群と low responder 群に分類し、high responder 群の屍体腎移植の予後は、low responder 群のそれに比して極めて悪いことを報告している。著者は、移植前の granulocytotoxin と lymphocytotoxin の産生能により移植患者を4群に分類することが可能であると考えている。すなわち、granulocytotoxin 陽性 lymphocytotoxin 陽性を A 群、granulocytotoxin 陽性 lymphocytotoxin 陰性を B 群、granulocytotoxin 陰性 lymphocytotoxin 陽性を C 群、granulocytotoxin 陰性 lymphocytotoxin 陰性を D 群の患者とすると図-1 に示したごとく A 群の患者の生存率は D 群のそれに比して極めて悪く、また、B 群および C 群の生存曲線は A 群と D 群の生存曲線の間位置することから、A 群を high responder 群とし最も予後不良な患者群、D 群は low responder 群で最も予後良好な患者群と考えている。また、B 群および C 群は moderate responder 群でその中間に属する患者群と考えている。この様に、移植前に granulocytotoxin と lymphocytotoxin の存在の有無により、移植予定患者を high risk, moderate risk あるいは、low risk 群に分類し、その予後をあらかじめ推測出来ることは腎移植の臨床において非常に重要なことと考える。

一方、granulocytotoxin の抗体特異性はヒト赤血球、血小板およびリンパ球によって取り除くことは出来ず、granulocyte のみによって、その抗体特異性を吸収することが可能なことから、granulocytotoxin は granulocyte に特異的な抗体で lymphocytotoxin すなわち HLA 抗体とはまったく異ったものであることが証明された。これらの granulocytotoxin の抗体特異性を分析した結果、14 種類の特異性に分類することが出来た。これら 14 種類の特異性に対応する granulocyte 特異抗原は、大きく、3 つの抗原群、すなわち G-A, G-B および G-C 群に分類することが可能であったが、各群における対立遺伝子の gene frequency から未検出の抗原が多く存在することが推測されるため、今後さらに新しい抗原を検索しなければならないと考えている。これらの 14 種類の granulocyte 特異抗原はその家系調査からメンデルの法則に従って遺伝することが明らかであるが、HLA 遺伝子との連関については明らかにすることが出来なかった。しかしながら、HLA-A および HLA-B locus の抗原とこれら 14 種類の granulocyte 特異抗原との間には相関関係はみられず、また、Lalezari⁴⁴⁾らが報告した、いわゆる好中球特異抗原とされている NA1, NA2, NB1, および NC1 との間にも相関関

係はみられなかった。

最近、ヒトの第6番目の染色体上に HLA 領域が存在することが明らかになり^{45,46)}、従来の HLA-A および HLA-B locus の抗原に加えて、新たに HLA-C および HLA-D locus の抗原が国際的に認められ⁴⁷⁾、さらに、B-cell 特異抗原の検索が国際的に行われるなど^{48,49)}、ヒトにおける主要組織適合抗原系が徐々にではあるが解明されつつある。Granulocyte 特異抗原も又新しい組織適合抗原として今後、臓器移植、特に骨髓移植あるいは腎移植の分野への応用が望まれる。

結 語

頻回輸血、妊娠あるいは移植によって、granulocytotoxin, lymphocytotoxin および granulocyte agglutinin など、種々の抗白血球抗体が患者血清中產生されることが証明されると同時に、granulocytotoxin は lymphocytotoxin すなわち抗 HLA 抗体とはまったく異なり、granulocyte に特異的な抗体であることが証明された。

また、屍体腎移植において、移植前に granulocytotoxin が検出された患者の75%は、1年以内に拒否反応によってその移植腎を失っており、さらに、移植後に granulocytotoxin が、証明された19名の患者すべてが1年以内に拒否反応によって移植腎を失っており、granulocytotoxin と屍体腎移植の予後との間に密接な相関関係が認められた。この事実から granulocyte 抗原はヒトにおける重要な組織適合抗原の一つであることが強く示唆された。

Granulocytotoxin の抗体特異性を分析することによって、遺伝学的に密接な連関のある3つのグループすなわち G-A、G-B および G-C 座より成る14種類の granulocyte 特異抗原を分類することが出来た。家系調査より、これらの14種類の対立遺伝子はメンデルの法則に従って遺伝することが証明されたが、HLA 遺伝子との連関は明らかではなかった。

謝 辞

稿を終えるにあたり、ご指導ご校閲下さいました林喬義教授(札幌医大微生物学講座主任)、ならびに和田寿郎教授(札幌医大外科学第二講座主任)に深謝致します。

また、本研究に対し患者血清の提供と直接のご指導をたまわった Paul I. Terasaki 教授(カルフォルニア大学ロサンジェルス外科)に厚く感謝の意を表します。

(本論文の要旨の一部は第5国際移植学会(イエールサレム、イスラエル)において報告した。)

参 考 文 献

- 1) Amos, D. B. (ed): Histocompatibility Testing 1964. Munksgaard, Copenhagen (1964).
- 2) Balner, H. *et al.* (eds): Histocompatibility Testing 1965: report of a conference and workshop, sponsored by the Boerhaave courses for postgraduate medical education, University of Leiden, 15-21 August, 1965. Munksgaard, Copenhagen (1965).
- 3) Courtoni, E. S. *et al.* (eds): Histocompatibility Testing 1967; report of a conference and workshop, Torino and Saint-Vincent, Italy, 14-24 June 1967. Munksgaard, Copenhagen (1967).
- 4) Terasaki, P. I. (ed): Histocompatibility Testing 1970; report of a conference and workshop, supported by National Institute of Allergy and Infectious Diseases and others. Munksgaard, Copenhagen (1970).
- 5) Dausset, J. *et al.* (eds): Histocompatibility Testing 1972; report of an International Workshop & Conference colloque de l'institut national de la santé et de la recherche médicale held at Evian, France 23-27 May 1972. Munksgaard, Copenhagen (1972).
- 6) Kissmeyer-Nielsen, F. (ed): Histocompatibility Testing 1975; report of the VI International Histocompatibility workshop and conference, held in Århus Denmark, at the Congress Centre, Scanticon, from June 29 to July 5, 1975. Munksgaard, Copenhagen (1975).
- 7) 宮島哲也, 板倉克明, 大河内一雄, 関口 進, 辻 公美, 十字猛夫, 内藤説也, 野本亀久雄, 長谷川恒彦, 森 隆, 吉田孝人, Terasaki, P. I., Mickey, M. R., 斎藤省一郎: HLA 抗原系の現況. 医学のあゆみ **100**, 267-272 (1976).
- 8) 長谷川恒彦, 林 喬義, 岩城裕一, 草島勝之, 和田寿郎: ワークショップ抗血清における HLA 特異性の検討. 札幌医学雑誌 **45**, 235-246 (1976).
- 9) Opelz, G., Mickey, M. R., Terasaki, P. I.: HL-A and kidney transplants; Reexamination. Transplantation **17**, 371-382 (1974).
- 10) Barnes, B. A., Bergan, J. J., Braun, W. E., Fraumeni, J. F. Jr., Kountz, S. L., Mickey, M. R., Rubin, A. L., Simmons, R. L., Stevens, L. E., Wilson, R. E.: The 12th report of the human renal transplant registry. JAMA, **233**, 787-796 (1975).
- 11) Belzer, F. O., Perkins, H. A., Fortmann, J. L.,

- Kountz, S. L., Salvatierra, O., Cochrum, K. C.: Is HL-A typing of clinical significance in cadaver renal transplantation. *Lancet* **1**, 774-777 (1974).
- 12) Terasaki, P. I., Opelz, G., Mickey, M. R.: Analysis of yearly kidney transplant survival rates. *Transplant. Proc.* **8**, 139-144 (1976).
- 13) Dick, H. M., Boyd, G. A., Briggs, J. D., Wood, R. F. M., Bell, P. R. F.: Sever rejection of an HL-A identical sibling renal transplant. Results of MLC tests. *Tissue Antigens* **2**, 480, (1972).
- 14) Discams, B., Hinglais, N., Crosnier, J.: Renal transplantation between 33 HL-A identical siblings. *Transplant. Proc.* **5**, 231-236 (1973).
- 15) Etheredge, E. E., Shons, A. R., Schmidtke, J. R., Najarian, J. S.: Mixed leukocyte culture reactivity and rejection in renal transplantation in HL-A identical siblings. *Transplantation* **17**, 537-539 (1974).
- 16) Böyum, A.: Separation of leukocytes from blood and bone marrow. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* **21**, Suppl. **97**, (1968).
- 17) Terasaki, P. I., McClelland, J. D.: Microdroplet assay of human serum cytotoxins. *Nature* **204**, 998-1000 (1964).
- 18) Mittal, K. K., Mickey, M. R., Singal, D. P., Terasaki, P. I.: Serotyping for homotransplantation XVIII. Refinement of microdroplet lymphocyte cytotoxicity test. *Transplantation* **6**, 913-927 (1968).
- 19) Terasaki, P. I., Park, M. S.: Microdroplet lymphocytotoxicity test. *In*: J. G. Ray, Jr., D. B. Hare, B. S. Pharm, P. D. Pedersen, D. I. Mullally, (eds) NIAID manual of tissue typing techniques, 1976-1977, 69-82 Research Resources Branch, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, Bethesda, Md. (1976).
- 20) Mickey, M. R., Vredevoe, D. L., Terasaki, P. I.: Serotyping for homotransplantation XI: Group classification based on posterior probabilities. *Transplantation* **5**, 1071-1078 (1967).
- 21) Mickey, M. R.: Boolean factor analysis. *Transplant. Proc.* **8**, 312-314 (1976).
- 22) Albert, E., Mickey, M. R., Terasaki, P. I.: The use of computer programs for tissue typing and immunogenetic research. *Tissue Antigens* **2**, 173-181 (1972).
- 23) Payne, R., Rolfs, M. R.: Further observations on leukoagglutinin transfusion reactions. *Amer. J. Med.* **29**, 449-458 (1960).
- 24) Perkin, H. A., Payne, R., Ferguson, J., Wood, M.: Nonhemolytic febrile transfusion reactions: Quantitative effects of blood components with emphasis an isoantigen incompatibility of leukocytes. *Vox Sang.* **11**, 578-600 (1966).
- 25) Yankee, R. A., Grumet, F. C., Rogentine, G. N.: The selection of compatible platelet donors for refractory patients by lymphocyte HL-A typing. *New Engl. J. Med.* **281**, 1208-1212 (1969).
- 26) Yankee, R. A., Graff, K. S., Dowling, R. N., Henderson, E. S.: Selection of unrelated compatible platelet donors by lymphocyte HL-A matching. *New Engl. J. Med.* **288**, 760-764 (1973).
- 27) Thorsby, E., Helgesen, A., Gjerdal, T.: Repeated platelet transfusions from HL-A compatible unrelated and sibling donors. *Tissue Antigens* **2**, 397-404 (1972).
- 28) Graw, R. G. Jr., Herzig, G., Perry, S. *et al.*: Normal granulocyte transfusion therapy: Treatment of septicemia due to gram-negative bacteria. *New Engl. J. Med.* **287**, 367-371 (1972).
- 29) Higly, D. J., Yates, J. W., Henderson, E. S., Holland, J. F.: Filtration leukapheresis for granulocyte transfusion therapy. *New Engl. J. Med.* **292**, 761-766 (1975).
- 30) Shulman, N. R.: Immunological considerations attending platelet transfusion. *Transfusion* **6**, 39-49 (1966).
- 31) Lalezari, P., Bernard, G. E.: An isologous antigen-antibody reaction with human neutrophils, related to neonatal neutropenia. *J. Clin. Invest.* **45**, 1741-1750 (1966).
- 32) Lalezari, P., Murphy, G. B., Allen, F. H. Jr.: NB1 a new neutrophil specific antigen involved in the pathogenesis of neonatal neutropenia. *J. Clin. Invest.* **50**, 1108-1115 (1971).
- 33) Lalezari, P., Jiang, A. F., Yehen, L., Santorineous, M.: Chronic autoimmune neutropenia due to anti-NA2 antibody. *New Engl. J. Med.* **293**, 744-747 (1975).
- 34) Boxer, L. A., Greenberg, M. S., Boxer, G. J., Stossel, T. P.: Autoimmune neutropenia. *New Engl. J. Med.* **293**, 748-753 (1975).
- 35) Cline, M. G., Opelz, G., Sazon, A., Fahey, J. L., Golde, D. W.: Autoimmune panleukopenia. *New Engl. J. Med.* **295**, 1489-1493 (1976).
- 36) Kissmeyer-Nielsen, F. *et al.*: Scandiatransplant: Preliminary report of a kidney exchange pro-

- gram. Transplant Proc. **3**, 1019-1029 (1971).
- 37) Van Hooff, J. P., Hendriks, G. F. J., Schippers, H. M. A., van Rood, J. J.: Influence of possible HL-A haploidentity on renal-graft survival. Eurotransplant. Lancet. **1**, 1130-1132 (1974).
 - 38) Oliver, R. T. D., Sachs, J. A., Festenstein, H.: A collaborative scheme for tissue typing and matching in renal transplantation. VI. Clinical relevance of HL-A matching in 349 cadaver renal transplants. Transplant. Proc. **5**, 245-251 (1973).
 - 39) Dausset, J., Hors, J.: Statistic of 416 consecutive kidney transplants in the France Transplant Organization. Transplant. Proc. **5**, 223-243 (1973).
 - 40) Patel, R., Terasaki, P. I.: Significance of the positive crossmatch test in kidney transplantation. New Engl. J. Med. **280**, 735-739 (1969).
 - 41) Starzl, T. E. *et al.*: Schwartzman reaction after human renal homotransplantation. New Engl. J. Med. **278**, 642-648 (1968).
 - 42) Opelz, G., Mickey, M. R., Terasaki, P. I.: Identification of unresponsive kidney transplant recipients. Lancet **1**, 868-871 (1972).
 - 43) Opelz, G., Senger, D. P. S., Mickey, M. R., Terasaki, P. I.: Effect of blood transfusions on subsequent kidney transplants. Transplant. Proc. **5**, 253-259 (1973).
 - 44) Lalezari, P., Thalenfeld, R., Weinstein, W. J.: The third neutrophil antigen. In: P. I. Terasaki (ed), Histocompatibility testing 1970. 319-322, Munksgaard, Copenhagen (1970).
 - 45) Jongsma, A., van Someren, H., Westerveld, A., Hagemeijer, A., Pearson, P.: Localization of gene on human chromosomes using human-chinese hamster somatic cell hybrids. Human-genetik. **20**, 195-202 (1973).
 - 46) Van Someren, H., Westerveld, A., Hasemeijer, A., Mees, J. R., Khan, P. M.: Human antigen and enzyme markers in man-chinese hamster somatic cell hybrids: Evidence for syntenicity between the HL-A, PGM₃, ME₁, and IPO-B Loci. Proc. Nat. Acad. Sci. **71**, 962-965 (1974).
 - 47) WHO-IUIS terminology committee nomenclature for factors of the HL-A system. Transplant. Proc. **8**, 109-114 (1976).
 - 48) Matsuyama, M., Mori, T., Aizawa, M., Akaza, T., Hasegawa, T., Inou, T., Ilakura, K., Juji, T., Kiuchi, M., Mickey, M. R., Naito, S., Nomoto, K., Ohkouchi, K., Saito, S., Sekiguchi, S., Terasaki, P. I., Tsuji, K., Yosida, T.: Joint report of the Fourth Japan HLA workshop. B cell workshop 1. Tissue Antigens **8**, 373-378 (1976).
 - 49) Terasaki, P. I., Opelz, G., Park, M. S., Mickey, M. R.: Four new B lymphocyte specificities. In: Kissmeyer-Nielsen, F. (ed) Histocompatibility Testing 1975. 657-664, Munksgaard, Copenhagen (1975).
 - 50) 長谷川恒彦: Granulocyte 特異抗原と組織適合性に関する研究—microdroplet granulocyte cytotoxicity テストの開発— 札幌医学雑誌, 47 (2) (1978) 掲載予定.
 - 51) Hasegawa, T., Bergh, O. J., Terasaki, P. I., Graw, R. G.: Occurrence of Granulocyte cytotoxins and agglutinins. Transfusion **15**, 226-230 (1975).